

ВЛИЯНИЕ УЛЬТРАФИОЛЕТОВОЙ РАДИАЦИИ НА ЗАРАЖЕННОСТЬ МЕРИСТЕМНЫХ РЕГЕНЕРАНТОВ КАРТОФЕЛЯ (*Solanum tuberosum* L.) X-ВИРУСОМ.

Ковалёва О.А.

Введение. В настоящее время наиболее актуальной проблемой в физиологии растений стоит поиск новых подходов в формировании устойчивости растений к патогенам. Одним из таких подходов является возможное участие различных участков спектрального света в явлении фотоиндуцированной устойчивости растений.

В последние годы активно обсуждаются работы по исследованию влияния ультрафиолетовой радиации (УФР) на патогенные организмы культурных растений. Так, в работе Raviv, Michael [1] описаны положительные эффекты облучения УФР пораженных грибковыми инфекциями зерновых культур. Эти авторы утверждают, что ультрафиолетовое (УФ) облучение прерывает жизненный цикл нескольких грибковых инфекционных агентов и изменяет визуальное поведение многих насекомых.

Современные исследователи проявляют всё большее внимание к изучению молекулярных механизмов взаимодействия патогенов и растений, начинающихся с их контакта и завершающегося формированием ответа растения и подавления развития патогена. Действие патогена на растительный организм вызывает значительные изменения метаболизма растений.

Для преодоления иммунитета растения, патоген секретирует литические ферменты, специфические и неспецифические иммуносупрессоры, токсины и экзополисахариды [2; 3]. Элиситоры связываются с внешним участком белкового рецептора, расположенного в плазмалемме и вызывают его фосфолирование, а также изменение его конформации. Затем остаток фосфорной кислоты передаётся на цитоплазматический участок белка, изменяя его и вызывая активацию пероксидазы, ассоциированной с рецептором [4]. Активация фермента является важнейшим звеном сигнальной системы, которая передаёт элиситорный сигнал и вызывает экспрессию защитных генов, PR-белков, ингибиторов протеиназ, активных форм кислорода, которые определяют защитный ответ клеток на инфицирование [5].

В настоящее время выделяют ряд сигнальных систем, одной из которых является супероксидсинтазная сигнальная система. Окисление НАДФ·Н молекулярным кислородом приводит к образованию супероксид-анионов, которые в результате реакции, катализируемой СОД, превращаются в перекись водорода [5]. Резкое повышение содержания активных форм кислорода и перекиси водорода (так называемый «окислительный взрыв») оказывает подавляющее действие на развитие патогена [5]. В то же время

активные формы кислорода и перекись водорода являются вторичными посредниками, вызывающими активацию факторов регуляции транскрипции и экспрессию защитных генов [6].

Установлено, что активные формы кислорода образуются в реакциях с участием пероксидазы [7]. Во многих работах показано увеличение активности пероксидазы при патогенезе. Поэтому пероксидазу рассматривают как одну из важнейших каталитических систем среди биохимических факторов защиты растений от патогенных микроорганизмов [7].

Основываясь на экспериментальных данных, полученных нами ранее по изучению изменения активности пероксидазы при УФ облучении меристемных регенерантов картофеля [8; 9; 10; 11] и выше представленного литературного обзора данного раздела мы предположили вероятность оказания УФР антивирусного эффекта.

Целью работы явилось выяснение эффектов воздействия УФР на зараженность Х-вирусом (ХВК) меристемных регенерантов картофеля сорта Скарб.

Объекты и методы исследования. Исследования выполнены на меристемных регенерантах картофеля сорта Скарб белорусской селекции, которые выращивали под натриевыми лампами ДНАЗ-400 ($\lambda_{\text{max}}=610$ нм) фотопериод 16/8 часов, в пластиковых контейнерах на синтетических ионообменных субстратах при температуре $20\pm 2^{\circ}\text{C}$. Меристемные регенеранты картофеля подвергались заражению ХВК (механическая инокуляция клеточным соком инфицированных растений) в возрасте 7 суток и затем облучались УФР дозой 240 и 360 Дж/м² в возрасте 14 суток. Источник УФР – ртутная лампа ДРТ – 1000 ($\lambda=240-320$ нм). Для контроля величины дозы облучения растений использовали УФР – дозиметр ДАУ – 8. Однократная доза УФР была 120 Дж/м² или $E_1=1,2\cdot 10^5$ эрг/м². Контролем служили зараженные растения, не подвергавшиеся УФ облучению. Определение ХВК осуществляли с помощью метода ИФА на 14-е, 21-е сутки после облучения УФР согласно инструкции [12]. Все варианты экспериментов выполняли в 3-5 кратной повторности.

Результаты представлены как среднеарифметические значения и их стандартные ошибки с учетом числа биологических повторностей. Достоверность оценивали по критерию Стьюдента. Различия считали достоверными при $p<0,05$.

Результаты и обсуждение. Вирусные болезни - самые опасные болезни картофеля. Симптомы вирусных заболеваний разнообразны. Обычно это скручивание листьев, их пожелтение (часто пятнами), мельчание и общее угнетение растения. Симптомы могут сильно изменяться в зависимости от сорта, штамма вирусов и условий выращивания. Самые сильные потери урожая вызывают PLRV (вирус скручивания листьев), Y-вирус, X-вирус и PSTV (вирион веретеновидности клубней).

ХВК - один из наиболее распространенных вирусов картофеля (рис. 1). На многих сортах вирус не вызывает видимых симптомов, поэтому остается

незамеченным. Однако он вызывает снижение урожая, которое может достигать 15%. Идентифицировать вирус можно только лабораторными методами. Распространяется вирус преимущественно при механических контактах с поврежденными растениями, при резке картофеля, через сельскохозяйственные орудия и механизмы при сельскохозяйственных работах.



Рис. 1 - X-вирус картофеля: 1 – здоровый лист; 2 – инфицированный лист

Т а б л и ц а 1- Зараженность ХВК меристемных регенерантов картофеля сорта Скарб при УФР облучении

Вариант	Оптическая плотность при 492 нм			
	Время после заражения, сут			
	14	% к контролю	21	% к контролю
Контроль	1,961±0,12	-	1,990±0,11	-
+УФР 240 Дж/м ²	1,608±0,23	18	1,596±0,18	20
+УФР 360 Дж/м ²	1,578±0,15	20	1,547±0,10	22

Данные, представленные в табл. 1, говорят о снижении пораженности ХВК меристемных регенерантов картофеля при УФ облучении. Так доза УФР в 240 Дж/м² снижает пораженность ХВК на 18-20 %, а доза 360 Дж/м² – на 20-22 %.

Поскольку УФР способствует резкому увеличению активности пероксидазы в 1-3 сутки после облучения [8; 9; 10; 11], то вероятнее всего именно этим объясняется снижение заражённости ХВК меристемных регенерантов при УФ облучении.

Полученные результаты позволяют представить следующую модель (рис. 2): при воздействии УФР на клеточной стенке растения активируются пероксидазы, связанные с плазматической мембраной, или, как их называют, «внеклеточные пероксидазы».

При этом происходит одноэлектронное восстановление молекулярного кислорода до супероксидного аниона и накопление перекиси. Эта реакция протекает с высокой скоростью (она длится менее 1 с) и вызывает

«окислительный взрыв», и как результат – гибель патогенна. При активировании внеклеточных пероксидаз, происходит освобождение и активация G- белка и также активирование кальциевых каналов. Увеличение концентрации ионов Ca^{2+} влияет на работу протеинкиназы и НАДФ-Н оксидазы. Накопление свободных форм кислорода и перекиси активируют синтез защитных генов. В результате экспрессии этих генов начинается синтез новых белков, а также новых молекул пероксидазы [5]. Всё это приводит к формированию защитной реакции клеток картофеля.

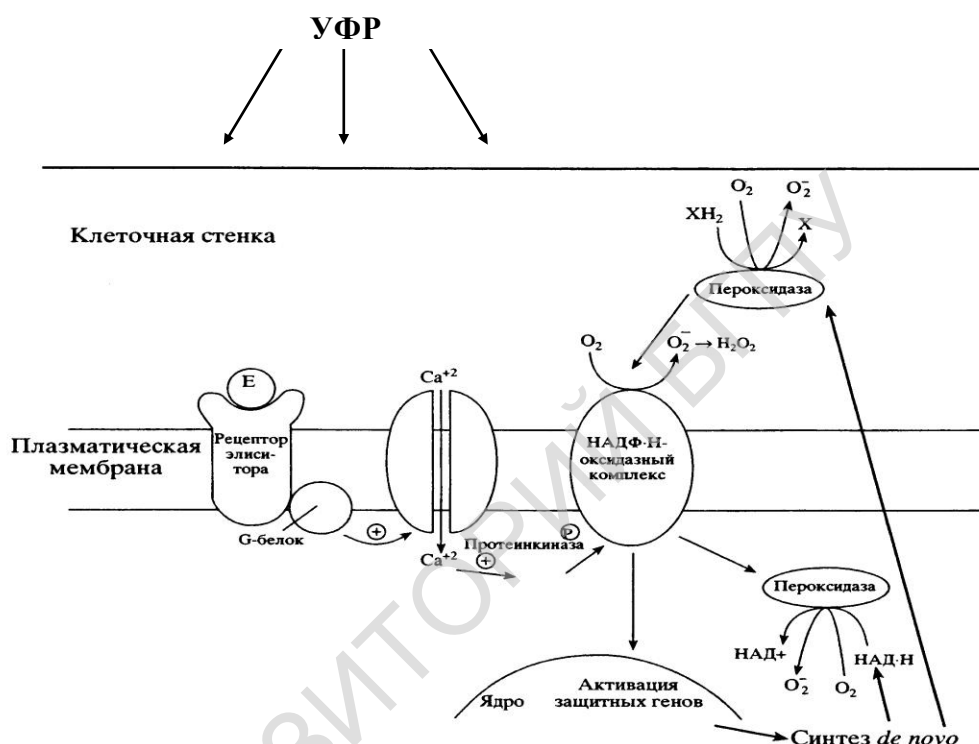


Рис. 2- Предполагаемые пути активации внутри- и внеклеточных пероксидаз при облучении УФР

Таким образом, при УФ облучении инфицированных меристемных регенерантов картофеля сорта Скарб наблюдается снижение ХВК, т.е. УФР обладает антивирусным эффектом за счет увеличения активности пероксидазы. Так доза УФР в 240 Дж/м^2 снижает зараженность ХВК на 18-20 %, а доза 360 Дж/м^2 – на 20-22 %, но следует также отметить, что полного ингибирования вирусной инфекции при данных дозах УФР не происходило.

Литература:

1. Raviv, Michael. UVR effects on pathogens and Insect Pest of Greenhouse – Grown crops // Photochemistry and Photobiology, Mar, 2004, p. 219-226.
2. The cascade mechanisms of nitric oxide as a second messenger of UVB in inhibiting mesocotyl elongation / M.X. Zhang [et al] // Photochem. Photobiol.-2003.-V.77. – P 235-244.
3. Bjorn, L.O. Effects of ozone depletion and increased UV-B on terrestrial ecosystems / L.O. Bjorn // Int. J. Environ. Stady. – 1996. –V.51. – P.217-243.

4. Galston, A. W. Polyamines as modulators of plant development / A. W. Galston // BioScience. – 1983. – V.33 – P.382-388.
5. Relation of polyamine synthesis and titer to aging and senescence in oat leaves / R. Kaur- Sawhney [et al.] // Plant Physiol. – 1982. – V.69. – P. 405-415.
6. Adamse P., Britz S.J. Rapid fluence-dependent responses to ultraviolet-B radiation in cucumber leaves: The role of UV-B absorbing pigments in damage protection. // J. Plant Physiol. 1996. Vol.148. P.57-62.
7. Slocum, R. The physiology and biochemistry of polyamines in plants / R. Slocum // Arch. Biochemistry and biophysics.- 1984. – V. 235. – P. 283-303.
8. Ковалёва О.А. Влияние ультрафиолетовой радиации на активность пероксидазы листьев меристемных регенерантов картофеля (*Solanum tuberosum*) // Материалы международной конференции молодых учёных «Актуальные проблемы ботаники и экологии». Киев. 2007. с.207-208.
9. Ковалёва О.А. Влияние УФ облучения меристемных регенерантов картофеля (*Solanum tuberosum*) на процессы ризогенеза и активность пероксидазы. // Материалы докладов XV Международной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых «Ломоносов – 2008» / Отв. ред. И.А. Алешковский, П.Н. Костылев, А.И. Андреев. [Электронный ресурс] — М.: Издательство МГУ; СП МЫСЛЬ, 2008. с. 18. ISBN 978-5-91579-003-1
10. Ковалёва О.А. Взаимосвязь процессов ризогенеза и активности пероксидазы в листьях меристемных регенерантов картофеля (*Solanum tuberosum*) при их облучении УФР.// Материалы международной научной конференции «Биоразнообразие: проблемы и перспективы сохранения». Пенза. 2008. с. 46-48.
11. Ковалёва О.А. Влияние облучения ультрафиолетовой радиацией меристемных регенерантов картофеля (*Solanum tuberosum*) на активность пероксидазы и способность к ризогенезу. // Материалы XV Всероссийской молодёжной научной конференции «Актуальные проблемы биологии и экологии». Сыктывкар. 2008. с. 119-120.
12. Инструкция по использованию иммуноферментного диагностического набора для определения вирусов картофеля. Коренево. - 2003. -8 с.